

P XXIII/6: Halorespiration

Desulfitobacterium chlororespirans Co23 ist ein anaerobes, Gram-negatives, Sporen-bildendes, im vegetativen Zustand bewegliches, leicht gekrümmtes Stäbchenbakterium mit der Fähigkeit, mittels reduktiver Dehalogenierung (= Halorespiration) chemotroph zu wachsen. Es überträgt die bei der Oxidation bestimmter Substrate freiwerdenden Elektronen auf die halogenierten C-Atome des Elektronenakzeptors und nutzt die dabei freigesetzte Energie zur Synthese von Biomasse.

Wir betrachten das chemoorganotrophe Wachstum von *Desulfitobacterium chlororespirans* Co23 mit Laktat und 3-Chlor-4-hydroxybenzoat. Laktat wird unvollständig oxidiert und 3-Chlor-4-hydroxybenzoat wird zu 4-Hydroxybenzoat dehalogeniert. Einige experimentelle Ergebnisse sind aus den Tabellen und Figuren ersichtlich.

Table 1 Electron donors tested for use by strain Co23 in a minimal medium^a

Substrate (mol)	Growth ^b		Product (mol)
	3Cl-4-HBA	2,3-DCP	
Acetate (1)	-	-	ND ^c
Formate (1)	+ ^d	+ ^e	None
Succinate (1)	-	-	ND
Propionate (1)	-	-	ND
Butyrate (1)	+	+	Acetate (2)
Crotonate	ND	+	Acetate
H ₂	+ ^d	+ ^d	None
Fumarate (1)	ND	-	ND
Pyruvate (1)	+ ^f	ND	Acetate (1)
Lactate (1)	+	ND	Acetate (1)

^a 2,3-DCP and 3-Cl-4-HBA served as electron acceptors. Cultures were grown at 30°C.

^b A positive score indicated growth, which was monitored by measuring the depletion of electron donor and acceptor.

^c ND, not determined.

^d Growth occurred only if acetate was present as a source of carbon.

^e Formate utilization observed when butyrate was also added.

^f Pyruvate supported growth both fermentatively and in the presence of an electron acceptor which was reduced.

Table 2 Electron acceptors tested with strain Co23^a

Electron acceptor ^b	Growth ^c
2-CP	-
3-CP	-
4-CP	-
2-Fluorophenol	-
2-Bromophenol	-
2-Iodophenol	-
2,3-DCP (3-CP)	+
2,4-DCP	-
2,5-DCP	-
2,6-DCP (2-CP)	+
2,4,6-TCP (4-CP)	+
2,4,6-Tribromophenol (4-BrP)	+
2,3,5-TCP	-
PCP	-
3Cl-4-HBA (4-HBA)	+
3-Chlorobenzoate	-
3-Cl-4-OH-phenylacetate (4-OH-phenylacetate)	+
3-Chloro-L-tyrosine	-
3-Chloroanisaldehyde	-
Others	
Sulfate	-
Sulfite	+
Thiosulfate	+
Sulfur	+
Nitrate	-
Fumarate	-

^a Growth was determined by measuring the depletion of the electron donor and electron acceptor as well as observing visual increase in culture turbidity. Lactate or butyrate was used as the electron donor. Cultures were incubated at 30°C.

^b Dechlorination products are given in parentheses.

^c +, support of growth; -, no growth.

Erklärungen

Verwertbare Elektronendonatoren und deren oxidierte Produkte sowie halogenierte und andere Elektronenakzeptoren und deren reduzierte Produkte gehen zum Teil aus den Tabellen 1 und 2 hervor. Darin bedeuten

CP: Chlorphenol

DCP: Dichlorphenol

TCP: Trichlorphenol

PCP: Pentachlorphenol und

4-HBA: 4-Hydroxybenzoat, das dehalogenierte Produkt von

3Cl-4HBA: 3-Chlor-4-hydroxybenzoat

Laktat: CH₃CHOHCOO⁻

Pyruvat: CH₃COCOO⁻

Biomasse: <C₅H₇O₂N> (Molmasse 113, Oxidationsstufen der Elemente: N III-, O II-, H I+, Die Oxidationsstufe des C lässt sich anhand dieser Angaben berechnen)

Aufgaben

Studieren Sie die experimentellen Daten in den Tabellen und Figuren und überlegen Sie sich Lösungen zu den untenstehenden Fragen:

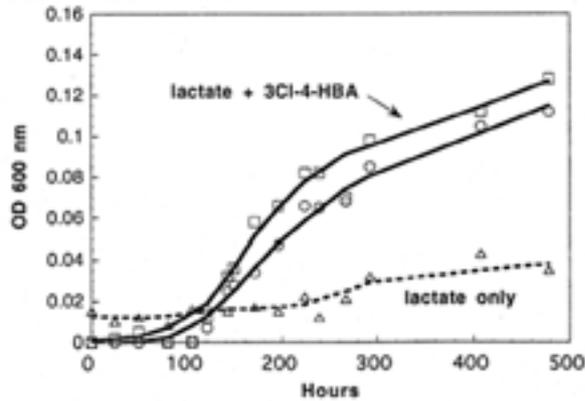


Figure 1 Growth of strain Co23 as indicated by an increase in turbidity (OD₆₀₀). Duplicate cultures with lactate and 3-Cl-4-HBA are compared with a control culture containing lactate alone.

1a Aryl-Halorespiration

Welche experimentellen Fakten stützen die Behauptung, dass *Desulfotobacterium chlororespirans* Co23 mittels Aryl-Halorespiration wachsen kann ?

1b Spezifität

Welche Spezifität für die Aryldehalogenierung lässt sich aus dem Elektronenakzeptorspektrum (Tabelle 2 und Figur 2) ableiten ?

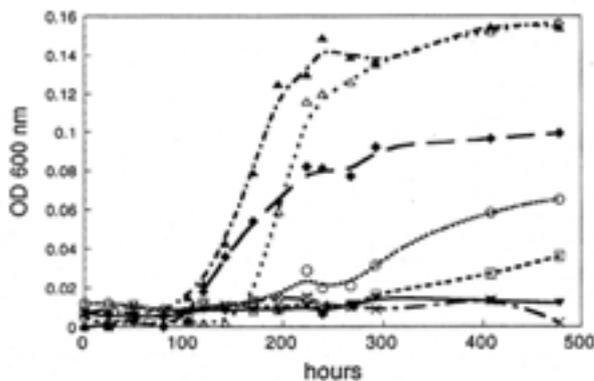


Figure 2 Growth of strain Co23 on different electron acceptors and lactate as measured by increases in turbidity (OD₆₀₀). Symbols: □, sulfur; △, sulfite; ▲, thiosulfate; ×, sulfate; ○, 3-chloro-4-hydroxyphenylacetate; ◆, 3Cl-4-HBA; ▼, lactate. Data are means of duplicate cultures.

1c Laktat-Oxidation

Bitte schreiben Sie - stöchiometrisch ausgeglichen - die Gleichung für die unvollständige Oxidation von Laktat zu Acetat und Hydrogenkarbonat, indem Sie die dabei freiwerdenden Elektronenequivalente als [H] in die Gleichung aufnehmen.

1d Arylhalogen-Reduktion

Bitte schreiben Sie - stöchiometrisch ausgeglichen - die Gleichung für die Reduktion von 3Cl-4HBA⁻ zu 4HBA⁻ mit [H] aus der Laktat-Oxidation (Aufgabe 1c).

2a Biomasse aus Laktat

Wie heisst die stöchiometrisch ausgeglichene Gleichung für die Synthese von 1 Millimol Biomasse der Zusammensetzung <C₅H₇O₂N> aus Laktat als alleiniger C- und Elektronenquelle und NH₄⁺ als N-Quelle.

2b Wachstumsausbeute

Wieviele Millimol Laktat werden gesamthaft verbraucht für die Synthese von 1 Millimol Biomasse, wenn die in Figur 3 dargestellte Elektronenverteilung zwischen Dissimilation und Assimilation der Berechnung zugrunde gelegt wird ?

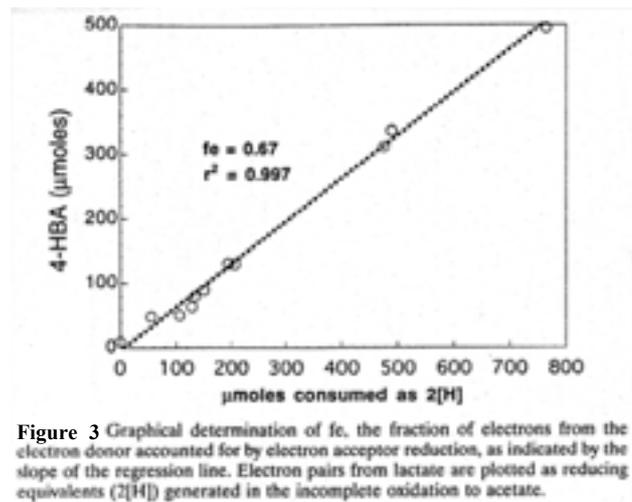


Figure 3 Graphical determination of fe, the fraction of electrons from the electron donor accounted for by electron acceptor reduction, as indicated by the slope of the regression line. Electron pairs from lactate are plotted as reducing equivalents (2[H]) generated in the incomplete oxidation to acetate.

2c Chlorid-Freisetzung

Wieviele Millimol Cl⁻ werden durch die reduktive Dehalogenierung von 3Cl-4HBA⁻ freigesetzt, wenn 1 mMol Biomasse synthetisiert wird (Aufgabe 2b) ?

2d Substratausbeute

Wie gross ist die Substratausbeute (Y) für die Biomassesynthese aus Laktat in g/Mol (nach Aufgabe 2b) ?

3 Homoacetogener Stoffwechsel

In Abwesenheit eines externen Elektronenakzeptors kann *Desulfitobacterium chlororespirans* Co23 Pyruvat homoacetogen verwerten. Schreiben Sie - stöchiometrisch ausgeglichen - die Assimilations- und die Dissimilationsgleichung für fermentatives Wachstum auf Pyruvat.

4 Phylogenie von *Desulfitobacterium chlororespirans* Co23

Konstruieren Sie einen phylogenetischen Verwandtschaftsstammbaum auf der Basis der 16S r-RNA Ähnlichkeiten, die in Tabelle 3 für einige Bakterien zusammengestellt sind.

Table 3 Pairwise similarity values for strain Co23 and selected bacterial species*

Species	% Similarity to:							
	<i>D. dehalogenans</i>	<i>Desulfitobacterium strain PCE1</i>	<i>D. chlororespirans Co23</i>	<i>Peptococcus niger</i>	<i>Hellobacterium chlorum</i>	<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>D. dehalogenans</i>	100							
<i>Desulfitobacterium strain PCE1</i>	99.5	100						
<i>D. chlororespirans Co23</i>	97.3	96.8	100					
<i>Peptococcus niger</i>	83.3	83	83	100				
<i>Hellobacterium chlorum</i>	87.9	87.3	87	83.3	100			
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	85.8	85.6	85.4	83.7	85.6	100		
<i>Bacillus subtilis</i>	84.3	84.2	84.1	81.7	83.5	83.8	100	
<i>Escherichia coli</i>	77.4	77.3	77.3	77.3	78.3	77.4	77.8	100

* Similarity values were calculated for 1,384 aligned residues.